

갈색 양송이 신품종 ‘호감’ 육성

오연이^{1,*} · 장갑열 · 공원식 · 신평균 · 김은선 · 오민지 · 최인걸¹

농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과

¹고려대학교 생명공학과 대학원 생명공학과&BK21플러스

Development of a new brown button mushroom cultivar ‘Hogam’

Youn-Lee Oh^{1,*}, Kab-Yeul Jang, Won-Sik Kong, Pyung-Gyun Shin, Eun-Seon Kim, Min ji Oh and In-Geol Choi¹

Mushroom Science Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong 369-873, Korea

¹Department of Biotechnology College of Life Sciences and Biotechnology Korea University, Seoul 136-713, Republic of Korea

ABSTRACT: A new brown button mushroom cultivar, ‘Hogam’, C34 line, was made by crossing homokaryons, ASI1164-37 and ASI1175-66, selected by RAPD analysis and by cultivating three times. Mycelium of ‘Hogam’ on CDA (compost dextrose agar) media grew well at 25°C. The optimum pin-heading temperature of new variety and optimum growing temperature was 14-18°C. The thickness of the mature cap and stipe were thicker than a control, ‘Dahyang’ that developed in 2010. The color of pileus was light brown and lighter than ‘Dahyang’. Days required from casing to first harvesting were three days longer than control strain, but the weight of harvested fruiting body increased by 1.35 times. ‘Hogam’ cultivar are expected to contribute to the diversification of domestic mushroom cultivars.

KEYWORDS: *Agaricus bisporus*, Brown button mushroom cultivar, Morphological and cultural characteristics

서론

양송이(*Agaricus bisporus*)는 생김 모양을 빗대어 button mushroom으로 불리며, 식용버섯으로 맛과 향기가 뛰어나서 세계적으로 가장 널리 소비되는 버섯 중 하나이다(Jzsef *et al.* 2004). 최근 우리나라의 양송이 생산량은 6,678MT이고, 생산액은 433억이다(Special crop production in 2013). 양송이에는 일반적으로 많이 소비되는 백색양송이와 갓이

갈색을 띠는 갈색양송이로 구성된다. 특히 갈색양송이는 크래미버섯, 베이비 포토벨로, 베이비벨라, 미니벨라, 포터벨리니, 로먼버섯, 이탈리아버섯 또는 갈색버섯등과 같은 여러 이름으로 불리며 일반 버섯보다 크게 키워, 갓이 약간 벌어진 형태의 버섯은 potobello라고 불린다. 우리나라에서는 갈색양송이는 병충해에 강해 과거 705 등을 재배하였으나 가격이 낮고 재배규모는 적어 학교급식을 납품하는 농가에서 소규모로 재배를 하고 있다.

양송이는 다른 버섯과 달리 이차 자웅동주성(secondary homothalism)으로 한 담포자내에 두 개의 반수체핵(haploid nuclei)을 가지는 다핵성(multinucleate)을 지닌다. 이에 따라 교잡을 하지 않아도 포자내에 화합성을 가진 두 개의 핵이 임성을 띄어 대다수의 담포자가 자실체를 형성한다. 이에 교잡을 위한 동핵균주 확보가 어렵고, 교잡 후 꺾쇠연결체(clamp connection)가 형성되지 않아 교잡을 확인하기가 어렵다(Rapar and Raper, 1972). 현재까지 육종연구는 돌연변이(Fritsche, 1965; Stoller and Stauffer, 1953), 교배(Elliott, 1978; Kneebone, 1972; Moessner, 1962), 원형질체 분리(Horgen, 1991), 형질전환(Rhee *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 2000; Tomas *et al.*, 2001) 등이 이루어졌다. 동핵균주의

J. Mushrooms 2015 September, 13(3):237-242
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2015.13.3.237>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author
 E-mail : o5ne2@korea.kr
 Tel : +82-43-871-5707, Fax : +82-43-871-5702

Received September 8, 2015
 Revised September 20, 2015
 Accepted September 22, 2015

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Table 1. List of operon primers used in this study

Primer	Sequence(5'-3')	Tm(°C)	Primer	Sequence(5'-3')	Tm(°C)
OPA-02	TGCCGAGCTG	33.0	OPA-03	AGTCAGCCAC	28.9
OPA-05	AGGGGTCTTG	28.9	OPA-07	GAAACGGGTG	28.9
OPB-05	TGC GCC CTT C	33.0	OPC-14	TCGGTGCTTG	28.9

교잡유무는 동핵균주보다 교잡주(이핵균주)가 일반적으로 균사생장 및 활력이 뛰어나고, 자실체 형성유무로 확인을 하지만 이는 주관적이고 시간소모가 많으므로 분자생물학적 방법으로 RFLP(Xu *et al*, 1993), RAPD(Khush, 1992; Kerrigan, 1993), ISSR(Mahmudul, 2010, 2011)을 이용하여 분석하고 있다.

갈색 양송이 육종은 1980년에 육성한 '705호' 품종 이후로 최근에 2009년에 육성한 '다향'이 개발되었다(김 등, 2011). 현재 '705'와 '다향' 품종이 가장 많이 재배되고 있지만, 그 개발 품종수가 현재까지 3품종으로 13점의 백색 양송이 품종보다는 그 수가 부족하여 재배농가에서 신품종을 요구하고 있다. 이에 따라 본 연구는 기존 수집된 갈색균주 중 우수모본을 선발하여 동핵균주간 교잡 육종방법으로 품종을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

모본 선발

수집된 갈색양송이 12개 중 우수모본을 선발하기 위해 재배를 실시하였다. 우선 모균주들은 접종원을 만들기 위해 CDA(compost dextrose agar, compost dextrose agar, 4% dried compost, 0.7% Malte extract, 1% sucrose, 2% agar)배지에서 14일 동안 배양되고, 곡립배지(20 kg wheat, 0.6 kg gypsum, 0.3 kg calcium carbonate/100 bottles)에 접종원을 접종한 후, 균주에 따라 15~30일정도 배양 후 종균을 만들었다. 배지는 발효벗겨진 퇴비배지로 야외발효된 배지를 충남 부여에서 구입하여 후발효를 배지 온도 65°C에서 6시간, 55°C에서 약 7일 발효한 배지를 이용하였다. 종균 완성 후 한 상자(523×366×183 mm, 26 L)에 후발효된 퇴비배지 10 kg/box를 담아 종균 500 g/box으로 접종을 실시하였다. 종균이 접종된 배지는 온도 25°C, 습도 65% 조건에서 15일정도 배양하고 균이 80% 배양되었을때, 복토를 실시하였다. 복토 15일 뒤 발이유도를 위하여 온도 16±2°C, 습도 85% 조건으로 변화를 주었다. 자실체는 갓이 완전히 피기 전, 농가에서 주로 생산되는 형태로 1~2주기 동안 수확하여 수확량, 개체중, 갓의 직경 및 두께, 대의 두께 및 길이를 측정하였다.

단포자 분리

버섯 포자는 수확한 자실체를 이용하여 90×15 mm 페트리 디쉬에서 1-2일 동안 거치한 뒤 수집하였다. 수집된

포자는 10⁻¹~10⁻⁴로 증류수로 희석되어 CDA배지에 도말하였다. 도말된 배지는 25°C 조건에서 배양하면서 단포자(Single spore isolate, SSI)로부터 균사가 자라면 새로운 배지에 계대하여 다시 배양하였다. 분리된 SSI은 2주 동안 25°C에서 배양되어 1주일 간격으로 균사 생장길이와 균총의 특징을 조사하였다.

동핵균주 분리를 위한 RAPD분석

SSI들 중 동핵균주를 선발하기 위해 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) 분석을 실시하였다. DNA 추출을 위해 CDA배지에 균사체를 배양하여, 25°C 배양기에서 15일 동안 배양하였다. 배양 후 scraper를 이용하여 배지를 제외한 균사를 회수하여, 1.5 ml tube에 옮기고 48시간 동안 동결건조(오페론 FDU-7006, 6 L) 한 후 액체질소를 이용하여 막자사발로 갈았다. Genomic DNA추출은 Toyobo Mag Extracter(MTNPK-501)를 이용하여, 제공된 매뉴얼에 따라 genomic DNA를 추출하였다. PCR 반응은 Prime Taq Premix(Genetbio, G-3000)을 사용하여 GeneAmp PCR System 9700 기계로 operon primer set을 사용하여 95°C(5 min) 1 cycle, 94°C(30 sec), Tm(30 sec), 72°C(30 sec)에서 45 cycles, 4°C 휴지조건의 프로그램으로 실시하였다(Table 1). 전기영동은 1.5% agarose gel에서 50 V로 90분간 수행하였고, 전기영동은 ImageQuant 400(GE healthcare Bio-sciences) 기계의 IQuant Capture 400프로그램을 이용하여 확인하였다.

동핵균주 교잡

교잡주를 형성하기 위해 RAPD분석으로 선발된 잠재적인 동핵균주의 단포자(putative homokaryotic SSI)는 CDA배지에서 교잡되었다. 각 동핵균주의 SSI는 10mm정도 사이로 균사체를 서로 대치배양하고 균총이 만나는 부위를 떼어서 2차례 CDA배지에 계대배양 하였다. 교잡유무는 교배형 유전자(HD1 homeodomain transcription factor A mating type protein) a1-1-L3(5'-GTG AAC GAC GTG ATG GTG AC-3'), a1-1-R3(5'-TTC ACT CAT GGC TGA TCT CG-3')의 특이유전자 마커를 이용하여 PCR로 밴드다형성을 비교하여 확인하였다.

교잡주의 우수계통 선발

교잡이 확인된 균주들 중에서 우수계통을 선발하기 위해 교잡주형태적 특성을 살펴보았다. 교잡주에 대한 재배

는 평균 500 g/box에 벗짚퇴비배지 10 kg/box을 이용하여 모본선발과정과 동일하게 진행되었으며, 우수계통을 선발하기 위하여 3회에 걸쳐 실시하였다. 1차로 전체 교잡주를 1상자씩 재배하고, 2차로 선발된 10점의 교잡주를 3상자씩 재배하고, 3차로 선발된 6점의 교잡주를 3상자씩 재배하였다. 3차 재배에서 최종적으로 우수계통 1 계통을 선발하였다.

신품종의 재배적 및 형태적 특성조사

최종적으로 선발된 계통은 ‘다향’을 대조품종으로 하여 재배적, 형태적 특성비교를 위하여 재배되었다. 재배적 특성으로는 균배양기간, 초발이일수와 재배기간이 조사되었고, 형태적 특성으로는 개체중, 수확량, 갓의 직경 및 높이, 대의 길이 및 두께를 측정하였다. 마지막으로 자실체의 품질을 조사하기 위해 자실체의 물리성 중 갓과 대의 경도 (TA1 Texture Analyzer, LLOYD, UK), 갓과 대의 명도값 (Chromameter(CR-400), Minolta Co, Japan)이 측정되었다.

결과 및 고찰

모본선발 및 단포자 분리

수집된 갈색양송이버섯 12개 균주에서 갓의 직경과 두께, 대의 길이와 두께, 수확량과 개체중을 측정하였고, 각 균주들의 포자를 수집하였다(Table 2). 데이터를 분석한 결과 ASI1164와 ASI1175균주가 형태적으로 우수하고, 다수확 균주로 조사되어 우수모본으로 선발되었다. 각 균주의 수집된 포자수는 ASI1040은 98점, ASI1086은 220점, ASI1159는 178점, ASI1164는 150점, ASI1175는 100점, ASI1191은 120점, ASI1325는 37점 수집되었다. ASI1039, ASI1041, ASI1167, ASI1177은 포자가 수집되지 않았다. 선발된 ASI1164와 ASI1175의 포자들은 도말되어 ASI1164는 149점, ASI1175는 100점의 단포자를 분리하였다.

동핵균주 분리를 위한 RAPD분석 및 교잡 확인

양송이버섯의 동핵균주는 이핵균주보다 균사생장이 느

Table 2. Morphological characteristics and yields of *Agaricus bisporus* germplasm

NO.	Strains	Yield(g)	individual weight(g)	Pileus(mm)		Stipe(mm)		Color of Pileus
				Diameter	Thickness	Thickness	Length	
1	1039	846.4±47.6	29.8±12.2	43.3±0	27.5±2.1	16.1±0	35.5±0.7	Brown
2	1040	646.6±45.4	30.7±5.7	46.8±1.5	24.1±2.7	18.8±1.8	36.3±4.7	Brown
3	1041	1325.4±105.3	28.1±6.4	47.5±1.7	26.8±3.4	18.2±1.8	32.9±5.3	Brown
4	1078	2361.9±266.2	19.3±7.1	-	-	-	-	Brown
5	1086	2133.4±284.1	34.8±12.7	47±3.3	26.1±4.7	22.6±3.8	33.1±8.4	Brown
6	1159	3726.1±396.5	58.4±32.5	-	-	-	-	Brown
7	1164	2489.6±288.5	40.6±17.1	46.7±2.9	24.8±3.3	22±3.4	30.5±3.6	Brown
8	1167	862.3±79.6	308.2±11	-	-	-	-	Brown
9	1175	1247.8±123.7	31.1±7.8	44.8±5.1	26.3±3.2	23.4±3.2	30.2±4.5	Brown
10	1177	1556.1±86.4	26.7±5.5	46.9±2.2	24.8±2.2	19.2±2.3	31.3±8.4	Brown
11	1191	1645.4±172.5	29.5±7.7	48.3±2.4	28.0±1.4	20.5±2	33.3±4.5	Brown
12	1325	2254.9±231.7	43.4±39.9	44.5±2.8	27±2.8	18.9±1.2	33.6±3.8	Brown

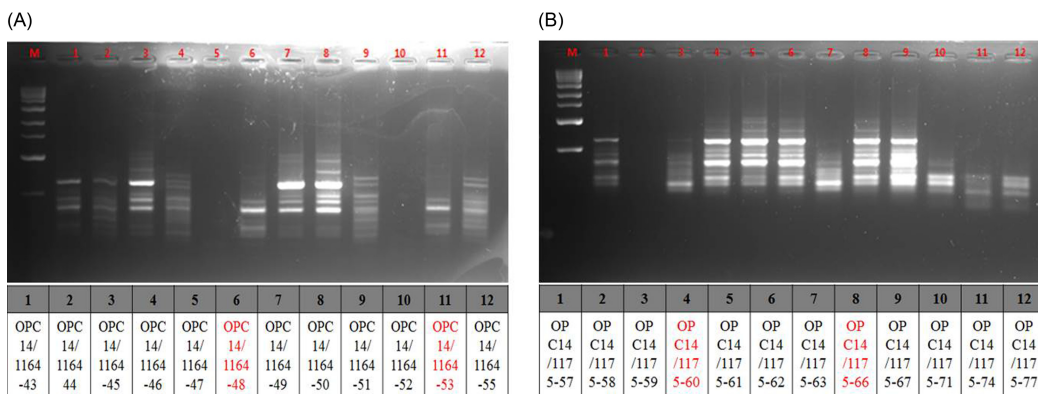


Fig. 1. RAPD fingerprints of SSIs from (A)1164 strains and (B)1175 strains of *Agaricus bisporus* with OPC14 primers M: 1kb DNA ladder; (A) 6 and 8 lane: putative homokaryons; (B) 4 and 8 lane: putative homokaryons

Table 3. Mycelial growth of selected putative homokayons from 1164(A) strains and 1175(B) strains of *Agaricus bisporus*.

NO.	SSI	Length(mm)	Density ^a	colony phenotype
1164	37	4.6±3.7	+	strand aerial
	48	4.6±4.2	+	strand aerial
	53	5.4±4.3	+	strand aerial
	75	5±4.6	+	strand aerial
	80	4.2±3.9	+	strand aerial
	86	5.2±4.2	+	strand aerial
	98	4.6±4.3	+	strand aerial fluffier
	127	5.6±4.7	+	strand aerial
	133	4.8±4.2	+	strand aerial
	135	3.8±4.1	++	aerial one side's fluffier
	142	5.8±4.3	+++	dense matted
1175	52	3.4±3.9	++	appressed regular margin
	60	3.6±4	++	aerial fluffier
	66	4±4	++	aerial fluffier
	85	3.4±2.8	+++	dense matted

+: 균사밀도 약; ++: 균사밀도 중; +++: 균사밀도 강

리고, 유전자 증폭산물에 대한 다형성이 단순한 것으로 알려져 있다.(Horgen, 1991). 이러한 사실을 바탕으로 수집된 동핵균주의 단포자들에 대하여 균사생장 길이를 조사하였다. 한편, 동핵균주를 선발하기 위하여 operon 프라이머 세트 중 *opc14*(5'-TGC GTGCTTG-3') 프라이머를 선발하고, 각 단포자의 DNA를 대상으로 PCR을 수행한 결과 ASI1164는 11점, ASI1175는 4점이 잠재적으로 밴드의 다형성이 적은 동핵균주로 확인되었다(Fig 1). 동핵균주들의 균사생장과 밀도, 균층의 특성은 Table 3와 같다. ASI1164균주에서 선발된 동핵균주들의 균사밀도가 전반적으로 낮았고, ASI1175균주는 동핵균주의 균사생장

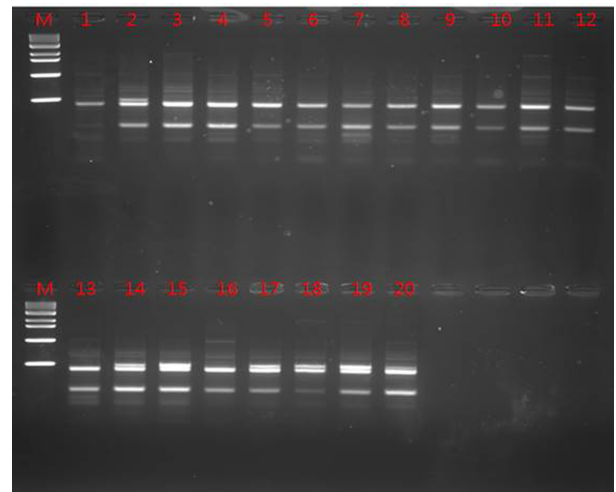


Fig. 2. Selection lines crossed with putative homokayons from 1164 strains and 1175 strains of *Agaricus bisporus* by PCR analysis with mating gene marker

M: 1kb DNA ladder; 1: Dahyang; 2: 1164 strain; 3: 1175 strains; 4: 1164-37; 5: 1164-48; 6: 1164-80; 7: 1164-86; 8: 1164-133; 9: 1164-142; 10: 1175-52; 11: 1175-60; 12: 1175-66; 13: 1175-85; 14: C9; 15: C11; 16: C13; 17: C24; 18: C27; 19: C34; 20: C39

이 느렸다. 선발된 균주들은 교잡을 통해 44점의 교잡주를 형성하였다.

교잡주의 우수계통 선발

교잡주에 대한 교잡을 확인하기 위하여 먼저 44점의 교잡주 모두를 대상으로 재배시험을 수행한 결과 모두에서 자실체가 형성된다는 사실을 확인하였다. 이 중 수확량, 개체중 및 형태순으로 우수한 특성을 보이는 7점의 교잡주를 선발하였다. 선발된 7점의 교잡주의 교잡유무는 교배형 유전자를 이용한 a1-1-L3, a1-1-R3의 특이유전자 마

Table 4. Morphological traits and yields of crossed lines with SSI from 1164 and 1175 strains in *Agaricus bisporus*.

Lines	Crossing	Yield(g)	Individual weight (g)	Pileus(mm)		Stipe(mm)		Hardness(N)		L-value	
				Diameter	Thickness	Thickness	Length	Pileus	Stipe	Pileus	Stipe
C9	1164-133 ×1175-52	3746.3±133.7	21.4±8.9	44.4±2.4	22.9±1.2	28.3±10.1	22.2±1.9	5.2±0.3	5.3±0.2	63.1±3.3	83.1±1.6
C11	1164-142×1175-52	3740.3±401.5	21.4±8.9	44.4±2.4	22.9±1.2	28.3±10.1	22.2±1.9	5.2±0.3	5.3±0.2	63.1±3.3	83.1±1.6
C24	1164-48 ×1175-60	3251.6±652.1	24.5±3.7	45.5±0.5	22.3±0.8	22.3±0.6	24.1±0.9	5.5±0.3	4.9±0.4	59.2±3.8	80.5±3.1
C27	1164-80 ×1175-60	3311.2±554.7	32.5±20.3	45.9±1.5	23.1±0.8	21.8±1.1	23.2±2.2	5.5±1.2	5.3±0.6	65.4±2.8	85.1±4.6
C34	1164-37 ×1175-66	4830.6±218.1	26.5±1.9	45.5±0.9	22.5±0.9	25.4±0.5	25.6±2.9	4.7±0.7	4.5±0.9	65.3±1.6	83.8±2.7
C39	1164-86 ×1175-66	4712.8±203.6	16.4±3.6	42.9±6.3	22.2±0.8	20.9±0.7	22.5±1.5	6.2±0.6	5.3±0.9	59.6±2.5	77.4±4.4

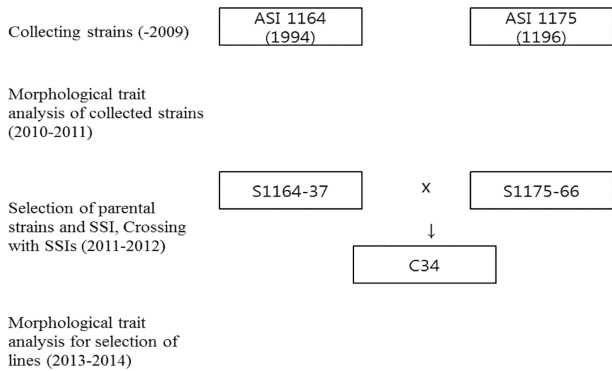


Fig. 3. The line breeding for C34, 'Homgam' variety

Table 5. Cultural characteristics of selected crossed lines

Lines	Cultivation period	Fruiting period after casing	Harvesting period
Hogam(C34)	15 days	35 days	40 days
Dahyang (Control)	15 days	32 days	37 days

커를 이용하여 Fig. 2과 같이 교잡이 안 된 C13 교잡주를 제외하고 Table 4과 같이 6점을 선발하였다. 선발된 균주에서 최종적으로 동핵균주 ASI1164-37과 ASI1175-66의 교잡주인 C34을 수확량 및 형태적으로 우수한 계통으로 육성하고, 품종명으로 ‘감색을 띄는 버섯이 좋다(好)’는 의미로 ‘호감’이라 명명하였다. (Fig. 3)

신품종의 재배적 및 형태적 특성조사

신품종 ‘호감’에 대한 재배적 및 형태적 특성을 조사하기 위하여 기존에 육성된 ‘다향’ 품종을 대조품종으로 하여 재배시험을 실시하였다. 신품종 ‘호감’의 균사생장은 CDA배지에서 25°C 조건이 가장 좋았으며, 버섯발생온도와 버섯생육온도는 14~18°C가 최적온도였다. Table 5와 같이 ‘호’ 품종은 ‘다향’에 비해 균사생장기간은 같지만, 초발이일수와 수확기간이 길었다. 수확량은 ‘호감’ 품종에서 약간 우수하였으며 개체중은 ‘호감’ 품종이 36.6g으로 ‘다향’ 품종보다 1.4배 증수되었다. 형태적 차이로는 갓과 대의 두께가 ‘다향’보다 두꺼웠으며, 물리성에서 경도는 ‘호감’이 약간 무르고, 갓과 대의 명도 값이 높아 밝은 갈색을 보였다(Table 6). 한편, 명도값의 차이는 시각

Table 6. Morphological characteristics of selected crossed lines

Lines	Yeild(g)	Individual weight(g)	Pileus(mm)		Stipe(mm)		Hardness(N)		L-value	
			Diameter	Thickness	Thickness	Length	Pileus	Stipe	Pileus	Stipe
Hogam (C34)	1280.8±465.9	36.6±17.2	47.0±8.8	25.4±3.2	27.7±3.9	22.3±5.4	3.4±0.7	5.1±1.5	40.4±8.7	63.9±7.5
Dahyang (Control)	1243.9±616.4	27.1±15.6	48.8±4.2	25.3±3.0	27.0±3.4	21.1±3.3	4.4±0.6	6.2±1.2	35.4±8.1	61.3±4.3



Fig. 4. Fruiting bodies of ‘Dahyang’(left) and ‘Hogam’(right) varieties in *Agaricus bisporus*.

적으로 확인 할 수 있었다 (Fig. 4).

적 요

신품종으로 육성된 갈색양송이 ‘호감’품종은 RAPD분석에 의해 선발된 동핵균주 ASI 1164-37과 ASI 1175-66 균주를 교잡하여 3차례 선발을 통해 육성된 C34계통이다. 이 품종의 ‘호감’품종의 CDA배지에서 균사생장은 25°C에서 가장 좋았으며, 버섯발생온도와 버섯생육온도는 14~18°C가 최적온도였다. 형태적 차이로는 갓과 대의 두께가 2010년도에 육성된 ‘다향’보다 두꺼웠으며, 갓은 밝은 갈색을 보였다. ‘호감’ 품종은 ‘다향’에 비해 초발이일수와 수확기간이 3일 더 길었지만, 개체중은 1.35배 증수되었으며, 이 품종은 국내 양송이품종의 다양화에 기여할 것으로 여겨진다.

감사의 말씀

본 연구는 GSP 원예종자사업단(213003-04-1-SBJ10)의 지원에 이루어진 결과입니다.

References

Chen X, Michelle S, Schlagnhauser C, Romaine CP. 2000. A Fruiting Body Tissue Method for Efficient Agrobacterium-Mediated Transformation of *Agaricus bisporus*. *Am Soc Microbiol*. 66(10): 4510-4513.

Dickhardt R. 1985. Homokaryotization of *Agaricus bitorquis* (Quel.) Sacc. and *Agaricus bisporus* (Lange) Imb. *Theor Appl Genet*. 70: 52-56

Elliott TJ. 1972. Sex and the single spore. *Mushroom Science*. 8: 11-18.

- Elliott TJ. 1978. Comparative sexuality in *Agaricus* species. *Journal of General Microbiology*. 107:113-122.
- Fritsche G. 1965. Beitrag zur Mutations forschung bei *Agaricus bisporus*. *Mushroom Science*. 6:27-47.
- Fritsche G. 1966. Versuche zur Frage der Erhaltungszuechtung beim Kulturchampignon. II. Vermehrung Durch Gewebekultur. *Zuechter*. 36:224-233.
- Fritsche G. 1978. Cultivated fungi in Agaricales. The biology and cultivation of edible mushroom. Academic Press. 240-243.
- Horgen PA, Jin T, Anderson JB. 1991. The use of protoplast production, protoplast regeneration and restriction fragment polymorphisms in developing a systematic and highly reproducible breeding strategy for *Agaricus bisporus*. Genetic and Breeding of *Agaricus*, p62-71, ed Greinsven LJLD. Pudoc press.
- Jzsef G, David MG, Daniel JR. 2004. Molecular evolution of *Agaricus species* based on ITS and LSU rDNA sequences. *Mycological Progress*. 3(2): 157-176.
- Kerrigan RW, Royer JC, Baller LM, Kohli Y, Horgen PA, Anderson JB. 1993. Meiotic behavior and linkage relationships in the secondarily homothallic fungus *Agaricus bisporus*. *Genetics*. 133(2): 225-236.
- Khush RS, Becker E, Wach M. 1992. DNA amplification polymorphisms of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. 58(9): 2971-2977.
- Kim HK, Ham IG, Lee KS, Lee BJ, Kim YG, Yang ES, Yoo YB, Kim HG. 2011. Characteristics of a new button mushroom variety 'Dahyang'. *J. Mushroom Sci. Prod*. 9(1): 17-21.
- Kneebone LR, Shutz PG, Patton TG. 1972: Strain selection and development by means of mycelial anastomosis. *Mushroom Science*. 8: 19-25.
- Miller RE. and Kannanen DL. 1972. Bipolar sexuality in mushroom. *Mushroom Science*. 8: 713-718.
- Moessner EJ. 1962. Preliminary studies of the possibility of obtaining improved cultures through mycelial fusion (anastomoses). *Mushroom Science*. 5: 197-203.
- Mahmudul IN and Bian YB. 2010. ISSR as New Markers for Identification of Homokaryotic Protoclones of *Agaricus bisporus*. *Current Microbiology*. 60(2): 92-96.
- Mahmudul IN and Bian YB. 2011. Differentiation of homokaryons and heterokaryons of *Agaricus bisporus* with inter-simple sequence repeat markers. *Microbiological Research*. 166(3): 226-236.
- Raper, CA and Raper JR. 1972. Genetic Analysis of the Life Cycle of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 64(5): 1088-1117.
- Rhee MD, Graa PMA, Huizing HJ, Mooibroek H. 1996. Transformation of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*, to hygromycin B resistance. *Molecular and General Genetics MGG*. 250(3): 252-258.
- Special crop production in 2013. 60-117. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs.
- Stoller BB. and Stauffer JF. 1953. Studies on naturally occurring and ultraviolet radiation induced strains of the cultivated mushroom, *Agaricus campestris* L. *Mushroom Science*. 2: 51-65.
- Thomas SP, Mikosch BL, Sonnenberg ASM, Leo JLD. van Griensven. 2001. Transformation of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) using T-DNA from *Agrobacterium tumefaciens*. *Current Genetics*. 39(1): 35-39.
- Xu J, Kerrigan RW., Horgen PA, Anderson JB. 1993. Localization of the Mating Type Gene in *Agaricus bisporus*. *Am Soc Microbiol*. 59(9): 3044-3049.